



Centro Singular de Investigación
en Química Biolóxica e
Materiais Moleculares

SÍNTESIS DE β -AMINOALCOHOLES COMO POTENCIALES INHIBIDORES MULTIDIANA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

GRADO EN QUÍMICA

SANDRA MORAÑA FERNÁNDEZ

Trabajo de Fin de Grado

Curso académico 2017-2018



Departamento de Química Orgánica
Centro Singular de Investigación en Química Biológica y
Materiales Moleculares (CIQUS)

Dña. M. Rita Paleo Pillado, profesora titular de Química Orgánica y D. F. Javier Sardina López, Catedrático de Química Orgánica, de la Universidad de Santiago de Compostela.

Informan:

Que el trabajo titulado “Síntesis de β -aminoalcoholes como potenciales inhibidores multidiana de la enfermedad de Alzheimer” fue realizado por **Dña. Sandra Moraña Fernández** bajo su dirección, en los laboratorios del Centro de Investigación Singular en Química Biológica y Materiales Moleculares (CIQUS) perteneciente a la Universidad de Santiago de Compostela, habiendo dedicado a su ejecución un tiempo superior al mínimo legal requerido, y autorizan, por tanto, su presentación como Trabajo de Fin de Grado en Química.

Para que así conste, se expide la presente autorización en Santiago de Compostela, a 5 de Julio del 2018.

Fdo.: M. Rita Paleo Pillado

Fdo.: F. Javier Sardina López

ABREVIATURAS.

°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterasa
Ac	Acetilo
AD	Alzheimer's disease
Ala	Alanina
APP	Proteína precursora amiloide
Asp	Ácido Aspártico
BACE-1	β -secretasa
c	Concentración
CAS	Sitio aniónico catalítico
cm	Centímetros
d	Doblete
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
ddt	Doble doble triplete
DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
dt	Doble triplete
EA	Enfermedad de Alzheimer
ESI	Ionización por electrospray
Et	Etilo
g	Gramos
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
h	Horas
His	Histidina
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
Hz	Hercio
<i>i</i> Pr	Isopropilo
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento

m	Multiplete
Me	Metilo
MHz	Megahercio
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mmol	Milimoles
NFT	Ovillos neurofibrilares
PAS	Sitio aniónico periférico
P.f.	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PK	Proteínas quinasas
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singlete
sa	Singlete ancho
Ser	Serina
S _N 2	Sustitución nucleofílica bimolecular
t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
td	Triple doblete
THF	Tetrahidrofurano
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
UV	Ultravioleta

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN.	9
2.1. Hipótesis β-amiloide.	10
2.2. Hipótesis Tau.	11
2.3. Principales dianas farmacológicas e inhibidores.....	12
2.3.1. <i>Enzima β-secretasa o BACE-1.....</i>	<i>12</i>
2.3.2. <i>Agregados β-amiloides.....</i>	<i>13</i>
2.3.3. <i>Enzima acetilcolinesterasa (AChE).....</i>	<i>13</i>
2.4. Inhibidores multidiana.....	14
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Obtención de los aminoalcoholes (S) y (R)-1-4.....	17
3.2 Análisis retrosintético.....	17
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	19
4.1. Síntesis de 3-metilimidazolidin-2,4-diona (13).....	19
4.2. Síntesis de 2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona (17).	20
4.3. Síntesis de los aldehídos 10-12.....	21
4.3.1. <i>Síntesis de 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (10).....</i>	<i>21</i>
4.3.2. <i>Síntesis de 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (11).....</i>	<i>21</i>
4.3.3. <i>Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (12).....</i>	<i>22</i>
4.4. Síntesis de 1-(3-amino-2-hidroxipropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona (8)...	24
4.5. Síntesis de los productos finales 1-4.....	24
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	29
5.1. Procedimiento general.....	29
5.2. Síntesis de 3-metilimidazolidin-2,4-diona (13).	30
5.3. Síntesis de 2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona (17)..	30
5.3.1. <i>Síntesis de (S)-2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona. ((S)-17).</i>	<i>30</i>
5.3.2. <i>Síntesis de (R)-2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona. ((S)-17).....</i>	<i>31</i>

5.4. Síntesis de los benciloxibenzaldehídos 10-12.....	31
5.4.1. <i>Síntesis de 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (10).....</i>	31
5.4.2. <i>Síntesis de 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (11).....</i>	32
5.4.3. <i>Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (12).....</i>	33
5.4.3.1. <i>Síntesis de 3-(metoxifenil)metanol (20).....</i>	33
5.4.3.2 <i>Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (12).....</i>	33
5.5. Síntesis de 1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona (8) ...	34
5.5.1. <i>Preparación de (S)-1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-8).</i>	34
5.5.2. <i>Preparación de (R)-1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-8)....</i>	34
5.6. Procedimiento general para la síntesis de las hidantoínas finales 1-4	35
5.6.1. <i>Síntesis de (S)-1-(3-((3-(benciloxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona. ((S)-1)</i>	35
5.6.2. <i>Síntesis de (R)-1-(3-((3-(benciloxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona. ((R)-1)</i>	35
5.6.3. <i>Síntesis de (S)-1-(3-((3-((3-bromobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-2).</i>	36
5.6.4. <i>Síntesis de (R)-1-(3-((3-((3-bromobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-2).</i>	36
5.6.5. <i>Síntesis de (S)-1-(3-((3-((3-fluorobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-3).....</i>	36
5.6.6. <i>Síntesis de (R)-1-(3-((3-((3-fluorobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-3).....</i>	37
5.6.7. <i>Síntesis de (S)-1-(2-hidroxipropil)-3-((3-((3-metoxibencil)oxi)bencil)amino)propil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-4).</i>	38
5.6.8. <i>Síntesis de (R)-1-(2-hidroxipropil)-3-((3-((3-metoxibencil)oxi)bencil)amino)propil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-4).....</i>	38
6. CONCLUSIONES.	40
7. ANEXO I: ESPECTROS.	42

1. RESUMEN.

El cambio demográfico asociado al incremento de la esperanza de vida se refleja en un aumento de las afecciones asociadas a la edad como es la enfermedad de Alzheimer (EA). Esta enfermedad neurodegenerativa es irreversible pues no se dispone de un tratamiento efectivo en la actualidad. Una hipótesis aceptada para el origen de la EA está relacionada con la cascada amiloide, que postula que el aumento de péptidos β -amiloides da lugar a todas las características patológicas de la enfermedad, incluyendo la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares, la disfunción sináptica y la muerte neuronal.

El objetivo de este trabajo es la síntesis enantioespecífica de una serie de β -aminoalcoholes **1-4** (**Figura 1**) que puedan actuar como posibles inhibidores multidiana de la cascada amiloide: la enzima BACE-1, la enzima AChE y la agregación de los péptidos amiloides A β -42.

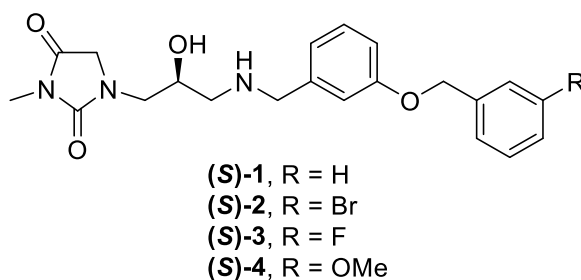


Figura 1. Estructura de los aminoalcoholes **1-4**.

La síntesis convergente de los aminoalcoholes **1-4** se realizó en varias etapas. Se sintetizaron diferentes benciloxibenzaldehídos **10-12** que, a continuación, se acoplaron mediante aminación reductora con las aminas quirales **8**, sintetizadas previamente a partir de 3-metilhidantoína y los dos enantiómeros del epóxido quiral **14**, para dar las dos series de aminoalcoholes **(S)-1-4** y **(R)-1-4** enantioméricamente puros.

Palabras clave: β -aminoalcoholes, hidantoína, BACE-1, inhibidores, enfermedad de Alzheimer.

Resumo.

O cambio demográfico asociado ao incremento da esperanza de vida reflíctese nun aumento das afeccións asociadas á idade como é a enfermidade de Alzheimer (EA). Esta enfermidade neurodexenerativa é irreversible pois non se dispón dun tratamento efectivo

na actualidade. Unha hipótese aceptada para a orixe da EA está relacionada coa cascada amiloide, que postula que o aumento de péptidos β -amiloides dá lugar a todas as características patolóxicas da enfermidade, incluíndo a formación de placas senís e ovillos neurofibrilares, a disfunción sináptica e a morte neuronal.

O obxectivo deste traballo é a síntese enantioespecífica dunha serie de β -aminoalcois **1-4** (**Figura 1**) que poidan actuar como posibles inhibidores multidiana da cascada amiloide: a enzima BACE-1, a enzima AChE e a agregación dos péptidos amiloides A β -42.

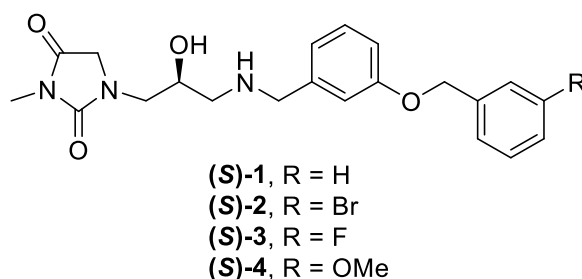


Figura 1. Estrutura dos aminoalcois **1-4**.

A síntese converxente dos aminoalcois **1-4** realizouse en varios pasos. Sintetizáronse diferentes benciloxibenzaldehidos **10-12** que, a continuación, acopláronse mediante aminación redutora coas aminas quirais **8**, sintetizadas previamente a partir da 3-metilhidantoína e os dous enantiómeros do epóxido quiral **14**, para dar as dúas series de aminoalcois (**S**)-**1-4** e (**R**)-**1-4** enantioméricamente puros.

Palabras clave: β -aminoalcois, hidantoína, BACE-1, inhibidores, enfermidade de Alzheimer.

Abstract.

The demographic change associated with the increase in life expectancy is reflected by a rise in the aging-associated disorders, such as Alzheimer's disease (AD). This neurodegenerative disease is irreversible since there is at present no effective treatment available. An accepted hypothesis for the origin of the AD is related to the amyloid cascade, which postulates that the increase of β -amyloid peptides leads to all the pathological characteristics of the disease, including the formation of senile plaques and neurofibrillary tangles, the synaptic dysfunction and neuronal death.

The objective of this work is the enantiospecific synthesis of a set of β -aminoalcohols **1-4** (**Figure 1**) that can act as possible multitarget amyloid cascade inhibitors: BACE-1 and AChE enzymes and the A β -42 amyloid peptide aggregation.

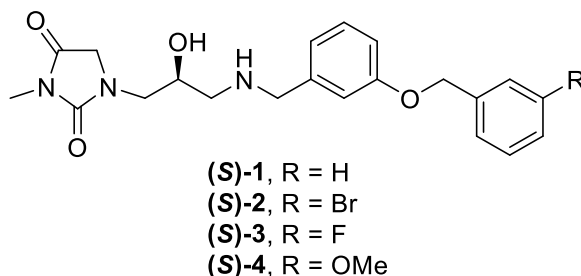


Figure 1. Structure of aminoalcohols **1-4**.

The convergent synthesis of aminoalcohols **1-4** was performed in several steps. Different benzyloxybenzaldehydes **10-12** were synthesized, which were then coupled by reductive amination with the chiral amines **8**, previously synthesized from 3-methylhydantoin and the two enantiomers of the chiral epoxide **14**, to give the enantiopure aminoalcohols (**S**)-**1-4** and (**R**)-**1-4**.

Keywords: β -aminoalcohols, hydantoin, BACE-1, inhibitors, Alzheimer's disease.

2. INTRODUCCIÓN.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el tipo de demencia más común asociada a la edad. Se trata de una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta al sistema nervioso central impidiendo las conexiones sinápticas entre las neuronas. Se caracteriza por provocar muerte neuronal (sobre todo de las neuronas colinérgicas) en diferentes zonas del cerebro, fundamentalmente en la corteza cerebral e hipocampo.¹

Como factor más importante de esta enfermedad debemos destacar la edad, en su inmensa mayoría afecta a personas mayores de 80 años y solo un pequeño porcentaje de pacientes se encuentran en un intervalo de edades de 30 a 59 años (en este caso se considera como Alzheimer hereditario). Otro elemento importante es el sexo, las mujeres son más propensas a padecer esta enfermedad.¹ (**Figura 2**)

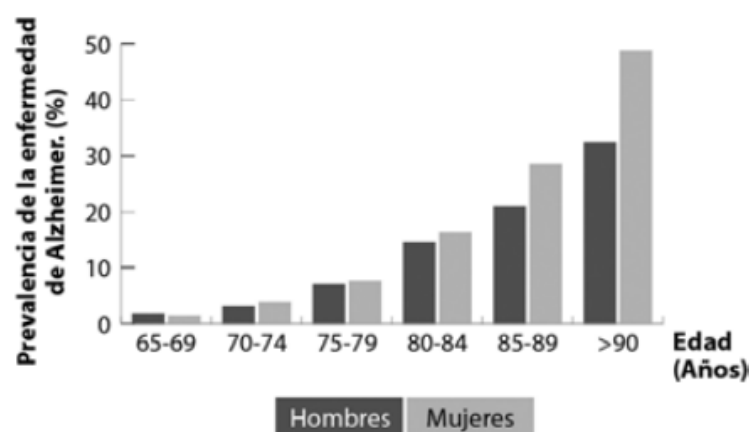


Figura 2. Predominio por grupos de edad y sexo de la EA en Europa.²

Se cree que esto es debido a la acción de los estrógenos con el gen ApoE4, el cual se descubrió hace poco que está relacionado con la EA.^{3,4}

En los últimos años se ha descubierto que los niveles de colesterol elevados, la hipertensión, la arteriosclerosis, el tabaco, la obesidad y la diabetes también están relacionados con la EA.

¹ Martínez, A. *El Alzheimer*. Madrid: 2009. CSIC. ISBN 978-84-00-08818-7.

² Domínguez, A.; Álvarez, A.; Suárez-Merino, B.; Goñi-de-Cerio, F. *Rev. Neurol.* **2014**, *58*, 213-224.

³ *Muy Saludable de Sanitas* [En Línea]. España. [Data de consulta 27 de junio de 2018]. Disponible en: <http://muysaludable.sanitas.es/>

⁴ Altmann, A.; Tian, L.; Henderson, V. W.; Greicius, M. D. *Ann. Neurol.* **2014**, *75*, 563-573.

Aunque sus síntomas y su avance varían mucho en función del paciente su evolución general se divide en tres etapas bien diferenciadas.

- Etapa inicial: aparecen los primeros síntomas, como las pérdidas de la memoria reciente, debido al deterioro de las funciones cognitivas.
- Etapa intermedia: aumentan las pérdidas de memoria, el paciente sufre desorientación espacio-temporal y tiene problemas con el lenguaje, con las funciones aprendidas y con el reconocimiento.
- Etapa final: todas las facultades intelectuales están muy afectadas y el paciente se vuelve completamente dependiente hasta que finalmente sufre un colapso sistémico y fallece.

Las causas que producen la EA todavía son desconocidas y por lo tanto los tratamientos de los que se dispone son limitados, paliativos y con fuertes efectos secundarios. Todo esto ha fomentado las investigaciones cuyo fin es encontrar la causa y una cura a la EA.

Actualmente existen varias teorías que pretenden explicar el origen de la EA siendo las principales la hipótesis β -amiloide y la hipótesis Tau.

2.1. Hipótesis β -amiloide.

Esta hipótesis expone a la proteína integral de membrana, proteína precursora amiloide (amyloid precursor protein, APP) como la principal causante de la EA.

Al estudiar los cerebros de pacientes con EA se encontraron unos depósitos de proteína en los espacios interneuronales llamados placas neuríticas, cuyo principal componente es la proteína β -amiloide.⁵

La proteína β -amiloide se genera por hidrólisis de APP mediante dos aspartilproteasas. En primer lugar, la enzima β -secretasa de la membrana celular hidroliza la APP generando dos fragmentos peptídicos. De los dos fragmentos uno se libera al espacio extracelular y el otro permanece unido a la membrana para ser posteriormente hidrolizado por la enzima γ -secretasa, generando los péptidos β -amiloides insolubles A β -40 y A β -42 (el cual presenta mayor toxicidad de los dos).⁶

⁵ Rommy-von Bernhardt, M. *Rev. Chil. Neuro-psiquiatr.* **2005**, *43*.

⁶ Findeis, M. A.; Mouradian, M. M. (ed.); *Pharmacol. Therapeut.* **2007**, *116*, 266-286.

Los péptidos amiloides A β -42 se acumulan formando oligómeros, los cuales se agregan dando lugar a las placas seniles que impiden las conexiones sinápticas provocando la muerte neuronal.⁷

Las placas seniles no son las únicas responsables de la interrupción de las conexiones sinápticas y de la muerte neuronal. Los péptidos A β -42 pueden asociarse a los canales iónicos específicos de Ca⁺² abriéndolos, generando una entrada masiva de iones de Ca⁺² que interrumpen la sinápsis y provocan la muerte neuronal.⁷

Esta hipótesis no está completamente probada para los casos de Alzheimer esporádico tardío (más del 99% de los casos) pero si en los que padecen Alzheimer de tipo hereditario.

2.2. Hipótesis Tau.

Esta hipótesis identifica a la fosfoproteína Tau (**Figura 3**) como la principal causante de la interrupción de la sinápsis.

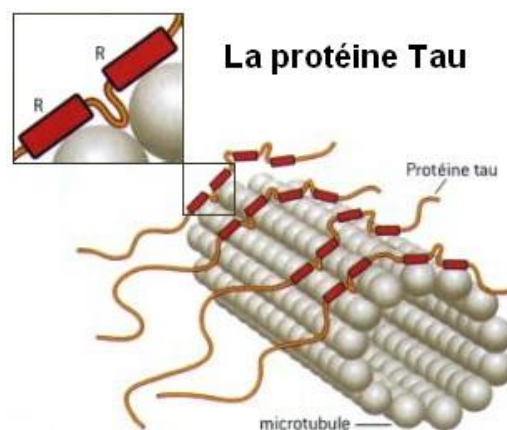


Figura 3. Proteína Tau sobre un microtúbulo.⁸

La función de Tau es estabilizar y promover la formación de los microtúbulos neuronales que transportan vesículas y otros componentes celulares hasta las terminaciones nerviosas.^{9,10} Su cometido puede verse alterado por un incremento de la concentración de Ca⁺² intracelular producido por la asociación del péptido A β -42 con los canales específicos de Ca⁺² de la membrana celular. Los elevados niveles de Ca⁺² producen la hiperactivación

⁷ Selkoe, D. J.; Hardy, J. *EMBO Mol. Med.* **2016**, 8, 595-608.

⁸ *Alzheimer Universal* [En Línea] [Data de consulta 27 de junio de 2018]. Disponible en: <https://www.alzheimeruniversal.eu>

⁹ Mattson, M. P.; Barger, S. W.; Cheng, B.; Lieberburg, I.; Smith-Swintosky, V. L.; Rydel, R. E. *TINS*. **1993**, 16, 409-414.

¹⁰ Hardy, J.; Selkoe, D. J. *Science*, **2002**, 297, 353-356.

de las PK, las cuales hiperfosforilan a la proteína Tau impidiendo que establezca los microtúbulos y favoreciendo la generación de oligómeros los cuales se agrupan en fibrillas que dan lugar a los ovillos neurofibrilares (Neurofibrilar tangles, NFT) que impiden la transferencia de mensajes de una neurona a otra.¹¹

Una vez conocidas las posibles causas de la enfermedad podemos pasar al diseño de fármacos. Para ellos debemos tener en cuenta las dianas farmacológicas sobre las que queremos actuar para inhibirlas y así evitar la formación de agregados proteicos.

2.3. Principales dianas farmacológicas e inhibidores.

2.3.1. Enzima β -secretasa o BACE-1.

Como se explicó anteriormente la β -secretasa realiza la primera reacción de hidrólisis de la APP por lo que la síntesis de una molécula capaz de inhibir su actividad aspartilproteasa podría suponer el primer paso hacia el desarrollo de una cura de la EA. Se caracteriza por poseer dos residuos de Asp en el centro activo y una horquilla β (o flap) determinante de la actividad enzimática.¹² (Figura 4)

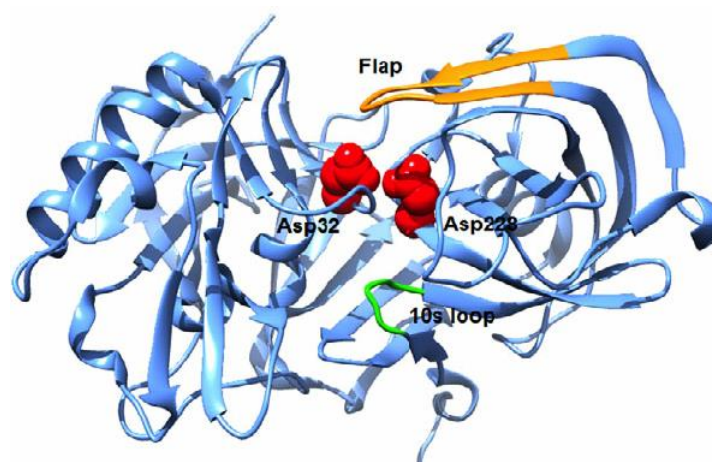


Figura 4. Centro activo de la enzima β -secretasa.¹³

Los posibles inhibidores de esta enzima serán moléculas con grupos funcionales con afinidad por el grupo ácido carboxílico de la cadena lateral del residuo de Asp. Gracias

¹¹ Obulesu, M.; Venu, R.; Somashekhar, R. *Neurochem. Res.* **2011**, *20*, 1175-1180.

¹² Stachel, S. J.; Coburn, C. A.; Steele, T. G.; Jones, K. G.; Loutzenhiser, E. F.; Gregro, A. R.; Rajapakse, H. A.; Ming-Lai, M. T.; Crouthamel, M. C.; Xu, M.; Tugusheva, K.; Lineberger, J. E.; Pietrak, B. L.; Espeseth, A. S.; Shi, X. P.; Chen-Dodson, E.; Holloway, M. K.; Munshi, S.; Simon, A. J.; Kuo, L.; Vacca, J. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6447-9450.

¹³ Kumalo, H. M.; Bhakat, S.; Soliman, M. E. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2015**

a estas interacciones, la APP no puede interaccionar con el centro activo de la enzima β -secretasa y por lo tanto no será hidrolizada.

2.3.2. Agregados β -amiloides.

Otra forma de evitar la formación de las placas seniles es impedir la agregación de los péptidos A β -42 mediante apilamientos π con moléculas aromáticas planas.⁶ En los últimos años se han desarrollado una serie de fármacos con estas características derivados de moléculas como el resveratrol¹⁴ (se encuentra en grandes concentraciones en uvas) y la curcumina¹⁴ (pigmento aislado de la cúrcuma).¹⁵

2.3.3. Enzima acetilcolinesterasa (AChE).

La AChE es una glucoproteína cuya función es catalizar la hidrólisis del neurotransmisor sináptico ACh¹⁶ (**Figura 5**) generando una molécula de ácido acético y el nutriente esencial colina.¹⁷ Estudios recientes han demostrado que no sólo cataliza la degradación de la ACh sino que también favorece la agregación de los péptidos A β -42 en oligómeros lo que la convierte en una fantástica diana farmacológica.

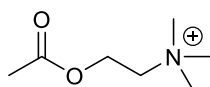


Figura 5. Molécula de Acetilcolina.

En el centro activo de la AChE se distingue una región esteérica que posee la tríada catalítica Ser²⁰³, His⁴⁴⁷ y Glu³³⁴ y una región aniónica catalítica (CAS), con los residuos Glu²⁰², Trp⁸⁶, y Tyr³³⁷, que se une al grupo trimetilamonio de la ACh.¹⁸ Este centro activo se comunica con el entorno a través de un canal en cuya entrada se encuentra el sitio aniónico periférico (PAS) que posee varios residuos aromáticos, Tyr y Trp entre otros.

Los grupos aromáticos presentes en los residuos de Trp y Tyr favorecen las interacciones con otras moléculas que también presentan anillos aromáticos mediante apilamientos π .

¹⁴ National Institutes of Health [En Línea]. U.S.A. [Data de consulta 28 de junio de 2018]. Disponible en: <https://www.nih.gov/>

¹⁵ Lee, Y. S.; Kim, H. Y.; Kim, Y. S.; Seo, J. H.; Roh, E. J.; Han, H.; Shin, K. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4921-4935.

¹⁶ National Center for Biotechnology Information [En Línea] U.S.A. [Data de consulta 28 de junio de 2018] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

¹⁷ Quinn, D. M. *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 955-979.

¹⁸ Zhou, Y.; Wang, S.; Zhang, Y. J. *Phys. Chem.* **2010**, *114*, 8817-8825.

Un inhibidor de la AChE adecuado debe poseer grupos funcionales que le permitan interactuar con la región de esterificación y la región aniónica de su centro activo impidiendo que realice su función. Uno ejemplos de moléculas inhibidoras son la tacrina y sus derivados,¹⁹ el donepezilo, la galantamina y la rivastigmina.²⁰

2.4. Inhibidores multidiana.

Debido a las diversas dianas farmacológicas existentes en la EA se barajó la posibilidad de sintetizar una molécula que posea diversos grupos funcionales con capacidad de interactuar con las distintas dianas e inhibirlas (inhibidor multidiana). El mayor obstáculo en la búsqueda de compuestos multidiana son las diferencias estructurales y de especificidad entre los centros activos de las distintas dianas, si bien se ha demostrado que los compuestos dirigidos a AChE y la agregación de A β -péptidos comparten ciertas características (por ejemplo la presencia de partes aromáticas).

El diseño de los posibles inhibidores multidiana se realizó como parte de una colaboración multidisciplinar con el grupo de Química Computacional de la Prof. M. Carmen Villaverde. Para conocer los requerimientos estructurales de los inhibidores multidiana se identificaron las partes específicas reconocidas por los bolsillos de unión de las diferentes dianas de la cascada amiloide. Para BACE-1 es importante la existencia de un grupo funcional que interaccione con la díada aspártica de esta enzima. En este contexto, el grupo hidroxietilamina se ha identificado como un ancla para esta díada aspártica mediante la unión por enlace de hidrógeno a la amina cargada y al grupo hidroxilo, respectivamente.

En cuanto a AChE, la mayoría de sus inhibidores poseen grupos aromáticos que interactúan mediante un apilamiento π con residuos aromáticos presentes tanto en el PAS como en el CAS. Dado que en AChE existen dos sitios con los que puede interactuar un inhibidor, será interesante diseñar compuestos que puedan interactuar simultáneamente con ambos. Por otra parte, algunos inhibidores de agregación poseen grupos aromáticos que se dirigen hacia algunas de las zonas ricas en residuos aromáticos presentes en los péptidos amiloides. Por lo tanto, un posible inhibidor multidiana podría contener un grupo hidroxietilamina para su interacción con BACE-1 y grupos aromáticos

¹⁹ Castellanos-Castillo, F. A. *Estudio de la inhibición de la acetilcolinesterasa y la relación estructura-actividad de terpenoides aislados de organismos marinos del caribe colombiano*. Tesis Doctoral. 2014. Universidad de Colombia.

²⁰ *Cochrane* [En Línea] Reino Unido. [Data de consulta 28 de junio de 2018]. Disponible en: <http://www.cochrane.org/>

en uno o ambos extremos para fomentar la interacción con AChE y el péptido A β -42 mediante apilamientos π . (Figura 6)

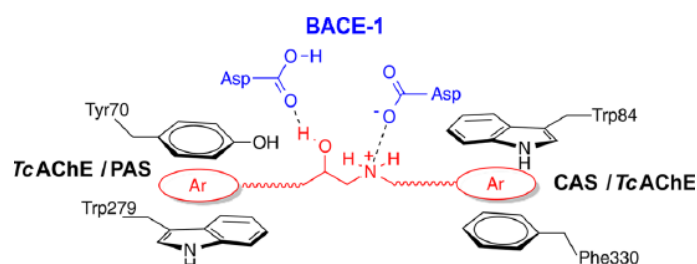


Figura 6: Interacción de los grupos funcionales de un inhibidor multidiana con las diferentes dianas farmacológicas de la cascada amiloide.²¹

Previamente a este trabajo se han sintetizado y evaluado una serie de compuestos que reúnen estas características como son los carbazoles **5** y los indoles **6** y **7**. (Figura 7)

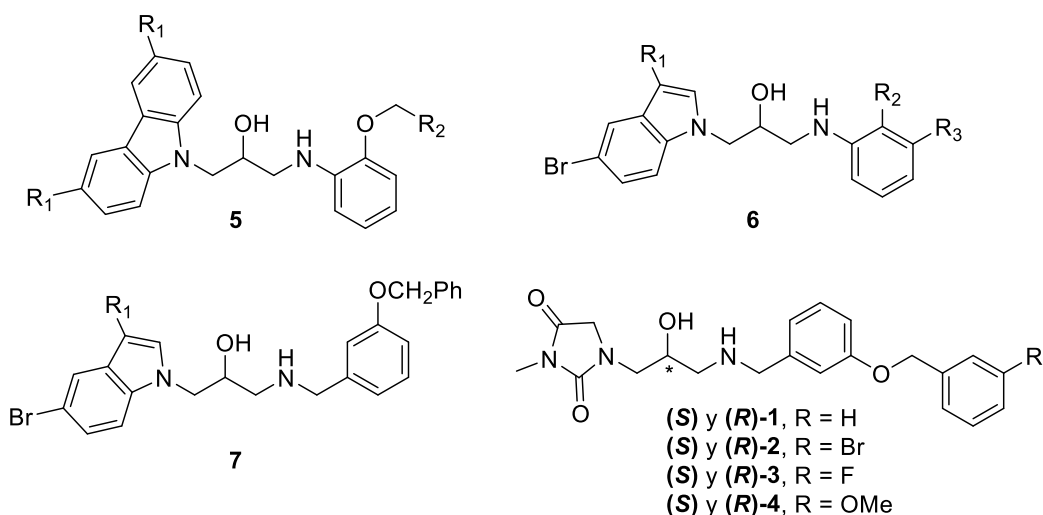


Figura 7. Estructuras de carbazoles **5**, indoles **6** y **7** y β -aminoalcoholes **1-4**.

El cambio del grupo carbazol por el indol, de menor tamaño y rigidez, supuso una mejora en los resultados de inhibición, así como el de anilinas por bencilaminas que le confiere un tamaño más adecuado para alcanzar tanto el CAS como el PAS de AChE. Además, los compuestos que mostraron un mejor comportamiento multidiana eran los que tenían una bencilamina sustituida en meta.²¹

A partir de estos resultados se realizaron nuevos ciclos de diseño asistidos por ordenador que resultaron en una nueva generación de candidatos basados en hidantoínas

²¹ Domínguez, J. L.; Fernández-Nieto, F.; Castro, M.; Catto, M.; Paleo, M. R.; Porto, S.; Sardina, F. J.; Brea, J. M.; Carotti, A.; Villaverde, M. C.; Sussman, F. J. *Chem. Inf. Model.* **2015**, *55*, 135–148.

(1-4), que comparten motivos estructurales con los inhibidores anteriores como son la presencia de la unidad de hidroxietilamina y una bencilamina sustituida en meta. (**Figura 8**)

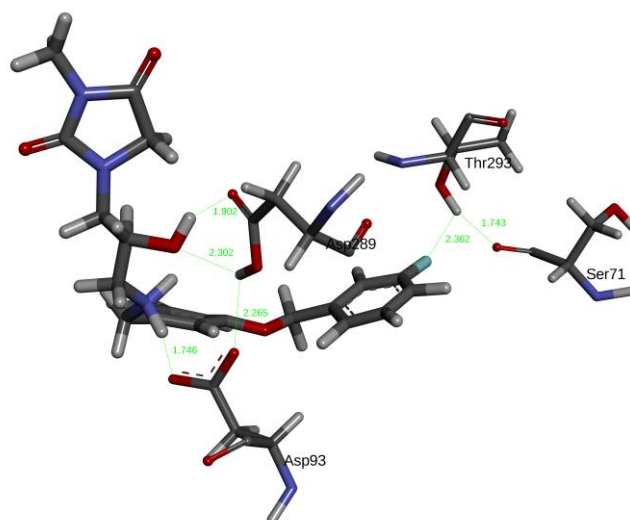


Figura 8. Interacción del aminoalcohol (**S**)-3 con BACE-1.

En la **Figura 8** se pueden ver las interacciones del aminoalcohol central con los aspárticos del sitio catalítico: el grupo hidroxilo con el Asp²⁸⁹ protonado y el grupo amino protonado con Asp⁹³. Además, se observa la formación de un enlace de hidrógeno entre el flúor y un residuo de treonina de la β -secretasa.

3. OBJETIVOS.

3.1 Obtención de los aminoalcoholes (*S*) y (*R*)-1-4.

El principal objetivo de este trabajo es la síntesis enantioespecífica de una serie de aminoalcoholes **1-4** que puedan actuar como inhibidores multidiana de la cascada amiloide. Basándonos en los resultados previos obtenidos en nuestro grupo de investigación²¹ y en nuevos ciclos de diseño asistidos por ordenador se concluyó que las moléculas **1-4** poseen la estructura adecuada para interactuar con las principales dianas de la cascada amiloide. (Figura 9)

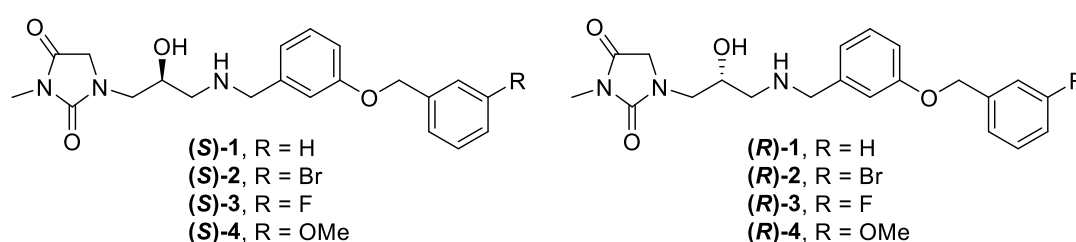
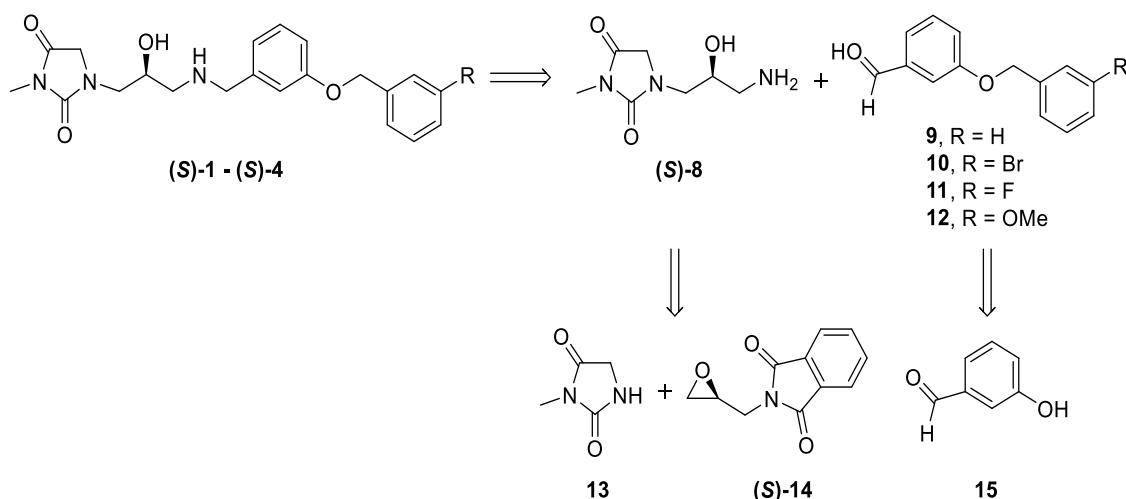


Figura 9. Estructura de las moléculas objetivo de este trabajo (*S*) y (*R*)-1-4.

3.2 Análisis retrosintético.

La aproximación sintética a los aminoalcoholes (*S*)-1-4 se realizó siguiendo el siguiente esquema retrosintético. (Esquema 1)



Esquema 1. Retrosíntesis propuesta para (*S*)-1-4.

Los aminoalcoholes enantioméricamente puros (*S*)-1-4 se sintetizaron de manera convergente por condensación del aminoalcohol (*S*)-8 con los aldehídos aromáticos **9-12**

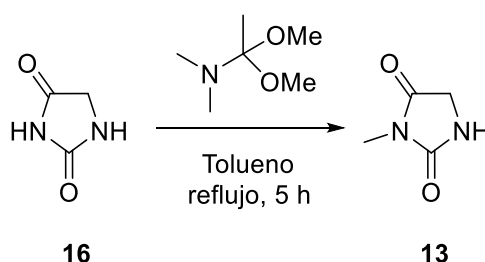
que presentan distinta sustitución en meta. A su vez los diferentes aldehídos **10-12** se obtuvieron a partir del 3-hidroxibenzaldehído (**15**), mientras que el aminoalcohol (**S**)-**8** se sintetizó mediante la reacción de apertura del epóxido (**S**)-**14** en medio básico con la 3-metilhidantoína (**13**). Los aminoalcoholes (**R**)-**1-4** se obtuvieron mediante el mismo procedimiento a partir de (**R**)-**14**.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Los aminoalcoholes objetivo se pueden dividir en dos series según su estereoquímica (*R*) o (*S*), y a su vez se diferencian en la sustitución de su anillo aromático: H, Br, F, OMe. Según la secuencia sintética propuesta, los productos finales se obtuvieron por aminación reductora entre el aminoalcohol quiral **8** y los distintos aldehídos **9-12**. A continuación se describe con detalle cada una de las etapas sintéticas que conducen a los productos finales y a sus precursores, así como los datos más relevantes en la caracterización de los productos.

4.1. Síntesis de 3-metilimidazolidin-2,4-diona (**13**).

La secuencia sintética se inició con la metilación selectiva en *N*-3 de hidantoína (**16**). Para ello se trató con la 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetiletan-1-amina que es un agente metilante que según la bibliografía²² presenta una alta selectividad por uno de los nitrógenos respecto del otro. Así, una disolución de hidantoína en tolueno se trató con 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetiletan-1-amina y se calentó a reflujo durante 5 h (**Esquema 2**). El producto metilado se aisló con un 75% de rendimiento por cristalización al enfriar la mezcla de reacción.



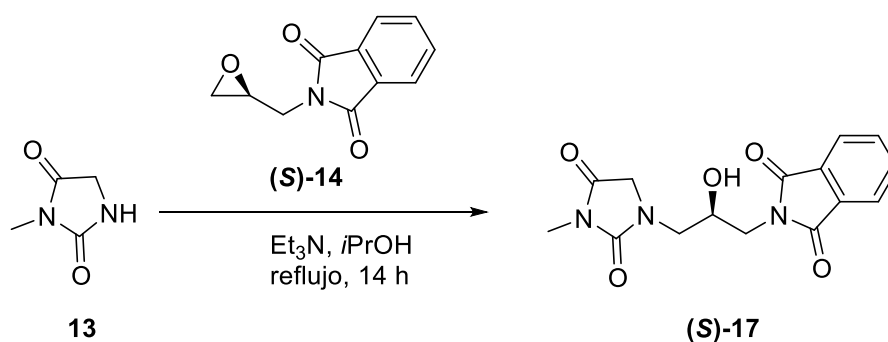
Esquema 2. Metilación de la hidantoina (**16**).

Los datos espectroscópicos obtenidos para **13** coinciden con los bibliográficos.²² En el RMN de ¹H aparecen tres señales características, a δ 6,22 ppm un singlete ancho que integra por 1H debido al NH de la hidantoina, a δ 3,98 ppm aparece la señal debida a los 2H del grupo metileno y a δ 3,02 ppm aparece un singlete que integra por 3H debido al grupo metilo incorporado en la reacción. En el RMN de ¹³C aparecen los dos carbonos cuaternarios a δ 171.7 y 159.0 ppm, el CH₂ a δ 46.7 ppm y al metilo a δ 24.6 ppm. Por último, en el espectro de IR se observa la banda de los carbonilos a 1684 cm⁻¹.

²² Janin, Y. L.; Huel, C.; Flad, G.; Thiroit, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1763-1769.

4.2. Síntesis de 2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona (17).

El siguiente paso en la secuencia sintética es la reacción de apertura de los dos epóxidos enantioméricamente puros **14** con la 3-metilimidazolidin-2,4-diona (**13**) para obtener los alcoholes quirales de las dos series. Inicialmente se ensayó la reacción de apertura del epóxido por 3-metilhidantoína en presencia de K_2CO_3 y utilizando 1,4-dioxano como disolvente pero no se observó progreso de la reacción. Cuando la reacción se repitió usando NEt_3 como base e $iPrOH$ como disolvente se observó avance de la reacción y las mejores condiciones se obtuvieron al calentar la mezcla de reacción a reflujo durante 14 h, que permitieron obtener el enantiómero (**S**)-**17** con un 72% de rendimiento a partir del epóxido *S* y el enantiómero (**R**)-**17** a partir del epóxido *R* con un rendimiento del 74% (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de (**S**)-**17** a partir del epóxido enantioméricamente puro (**S**)-**14**.

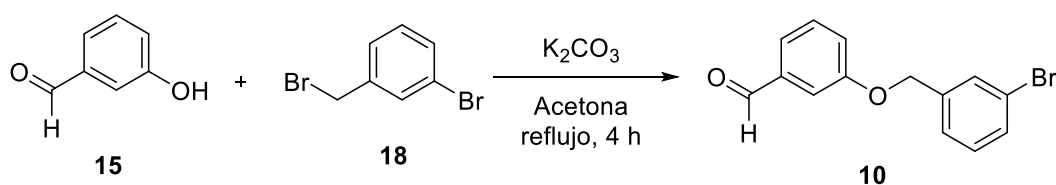
Los datos espectroscópicos para ambos enantiómeros coinciden y en el 1H RMN podemos observar como señales más características dos multipletes a δ 7.87 y 7.75 ppm que corresponden a los protones aromáticos de la ftalimida (2H cada uno) y un singlete a δ 3.01 ppm debido al metilo de la hidantoína (3H). Las señales debidas al resto de protones de la molécula aparecen entre δ 4.2 y 3.2 ppm. En el ^{13}C RMN aparecen tres carbonos cuaternarios a δ 170.6, 168.8 y 157.6 ppm que corresponden a los dos carbonilos de la hidantoína y a los dos carbonilos de la ftalimida (que por simetría aparecen como una señal única a δ 168.8 ppm). A δ 134.3, 131.8 y 123.5 ppm salen los carbonos aromáticos del grupo ftalimida y δ 69.0 ppm el carbono del hidroxilo. Los tres grupos metileno de la molécula aparecen a δ 51.7, 46.9 y 42.1 ppm y a δ 24.9 ppm el metilo de la hidantoína. En el espectro de IR podemos observar las bandas correspondientes a los carbonilos a 1688 y a 1755 cm^{-1} .

4.3. Síntesis de los aldehídos 10-12.

Paralelamente a la síntesis de los aminoalcoholes (R) y (S), se llevó a cabo la preparación de los distintos aldehídos aromáticos. Con la excepción del 3-benciloxobenzaldehído (**9**) que es comercial, los demás aldehídos se prepararon por reacción entre el 3-hidroxibenzaldehído y distintos bromuros bencílicos **10-12**.

4.3.1. Síntesis de 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (**10**).

El 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (**10**) se sintetizó a través de una S_N2 entre el 3-hidroxibenzaldehído (**15**) y el 1-bromo-3-(bromometil)benceno (**18**) en medio básico. Para ello, se trató una disolución de **15** en acetona con el bromuro **18** en presencia de K_2CO_3 como base, a reflujo durante 4 h. Se obtuvo el producto **10** como un aceite viscoso con un 48% de rendimiento. (**Esquema 4**)

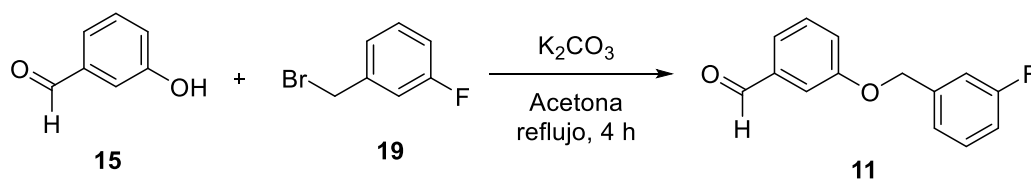


Esquema 4. Síntesis de 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído. (**10**)

Los datos espectroscópicos del producto **10** muestran en el 1H RMN un singlete a δ 9.98 ppm correspondiente al protón del grupo aldehído y varias señales en la zona aromática debidas a los protones aromáticos de los dos anillos de benceno. A δ 5.09 ppm aparece un singlete que integra por dos protones correspondiente al CH₂ bencílico. En el ^{13}C RMN aparece a δ 191.9 ppm el carbono del aldehído. A δ 158.9, 138.6, 137.8 y 122.7 ppm aparecen los 4 carbonos aromáticos cuaternarios, mientras que a δ 131.2, 130.3, 130.2, 125.9, 123.9, 122.0 y 113.1 ppm salen los CH aromáticos de la molécula. Por último, a δ 69.2 ppm se observa el CH₂ bencílico. En el espectro de IR aparece la banda característica del carbonilo a 1692 cm^{-1} .

4.3.2. Síntesis de 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (**11**).

El 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (**11**) se sintetizó de manera análoga al derivado que presenta un Br en su estructura, utilizando K_2CO_3 como base y acetona como disolvente. **11** se obtuvo como un sólido blanco con un 87% de rendimiento (**Esquema 5**).



Esquema 5. Síntesis de 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (**11**)

Los datos espectroscópicos del producto **11** muestran en el ^1H RMN un singlete a δ 9.98 ppm correspondiente al protón del grupo aldehído y varias señales en la zona aromática debidas a los ocho protones aromáticos. A δ 5.12 ppm aparece un singlete que integra por dos protones correspondiente al CH_2 bencílico. El ^{13}C RMN se complica con respecto a los otros análogos ya que en este caso se observan los acoplamiento C-F. A δ 192.1 ppm aparece el carbono del aldehído. A continuación, aparecen las señales debidas a los C cuaternarios aromáticos: a δ 163.1 ppm aparece una señal desdoblada con una $J = 246.5$ Hz correspondiente al carbono unido el flúor. A δ 159.1 ppm aparece la señal carbono unido directamente al oxígeno. A δ 139.0 ppm aparece una señal desdoblada con una $J = 7.4$ Hz debida a un acoplamiento C-F a larga distancia que correspondería con el carbono en meta al que tiene unido el F y a δ 137.9 ppm aparece el C cuaternario unido al aldehído. Las señales a δ 130.4, 130.3, 124.0, 122.2 y 113.2 ppm son debidas a los CH aromáticos que no presentan acoplamiento con el F. A δ 122.9 ppm aparece la señal debida al carbono en meta al C-F ($J = 3.1$ Hz) mientras que las señales a δ 115.2 y 114.3 ppm ($J = 21.0$ y 22.2 Hz respectivamente) son debidas a los dos carbonos en orto al C-F. Por último, a δ 69.4 ppm aparece una señal desdoblada con una $J = 2.1$ Hz debida al CH_2 bencílico. En el espectro de IR aparece la banda característica del carbonilo a 1684 cm^{-1} .

4.3.3. Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**).

El 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**) se sintetizó de forma diferente a los anteriores aldehídos. La secuencia sintética se basa en una reacción de Mitsunobu típica para la síntesis de éteres de arilo (**Figura 10**). Esta aproximación requiere la preparación previa del alcohol bencílico **20** en dos pasos a partir del 3-hidroxibenzaldehído.

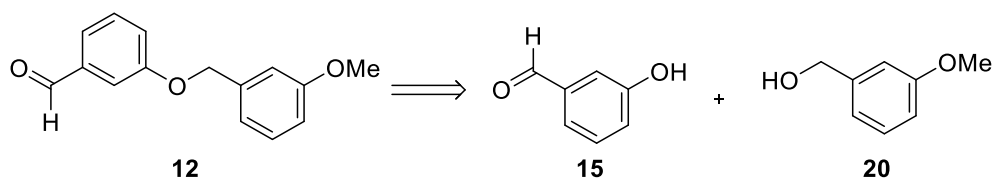
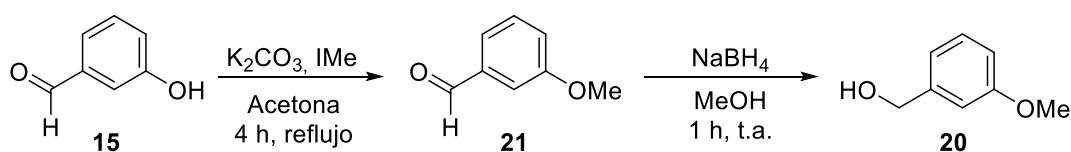


Figura 10. Ruta retrosintética para la síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**).

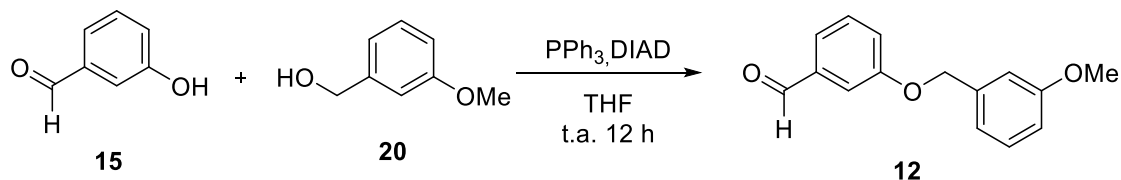
El primer paso de la ruta sintética (**Esquema 6**) consistió en la metilación del hidroxilo de **15** por tratamiento con yodometano en presencia de K_2CO_3 y utilizando acetona como disolvente. El producto **21** se obtuvo como un aceite incoloro con un 96% de rendimiento y se utilizó en la siguiente etapa sin necesidad de purificación cromatográfica.

A continuación, se realizó la reducción del aldehído por tratamiento con $NaBH_4$ en MeOH a t.a. durante 1 h, obteniéndose el alcohol bencílico **20** como un aceite incoloro con un 91% de rendimiento.



Esquema 6. Obtención del alcohol bencílico **20**.

Por último, se sintetizó el producto deseado a través de un acoplamiento de Mitsunobu. Se trató el producto **20** con DIAD, PPh_3 y el aldehído **15** durante 12 h a t.a. obteniéndose el producto deseado **12** con un 78% de rendimiento como un aceite amarillo tras purificación por cromatografía en columna (**Esquema 7**).

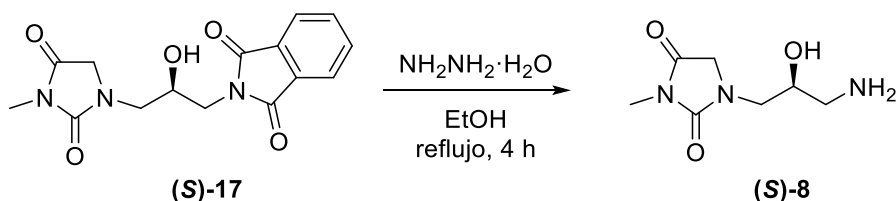


Esquema 7. Síntesis del benciloxibenzaldehído **12**.

Los datos espectroscópicos del producto **12** muestran en el 1H RMN un singlete a δ 9.99 ppm correspondiente al protón del grupo aldehído y varias señales en la zona aromática debidas a los ocho protones aromáticos de los dos anillos de benceno. A δ 5.12 ppm aparece un singlete que integra por dos protones correspondiente al CH_2 bencílico y a δ 3.85 ppm aparece un singlete que integra por tres protones correspondiente al CH_3 del metoxilo. En el ^{13}C RMN aparece a δ 192.2 ppm el carbono del aldehído. A δ 160.0, 159.4, 138.0 y 137.9 ppm aparecen los 4 carbonos aromáticos cuaternarios, mientras que a δ 130.2, 129.9, 123.8, 122.3, 119.8, 113.8, 113.4 y 113.1 ppm salen los CH aromáticos de la molécula. Por último, a 70.2 ppm aparece el CH_2 bencílico y a 55.4 ppm aparece la señal correspondiente al CH_3 del grupo metoxilo. En el espectro de IR aparece la banda característica del carbonilo a 1692 cm^{-1} .

4.4. Síntesis de 1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona (8).

La desprotección del grupo ftalida se realizó por tratamiento de una disolución de **17** en EtOH con hidracina a reflujo durante 4 h. La reacción se repitió para ambos enantiómeros obteniéndose los productos **(S)**-8 y **(R)**-8 con rendimientos del 99% y 92%, respectivamente (**Esquema 8**).

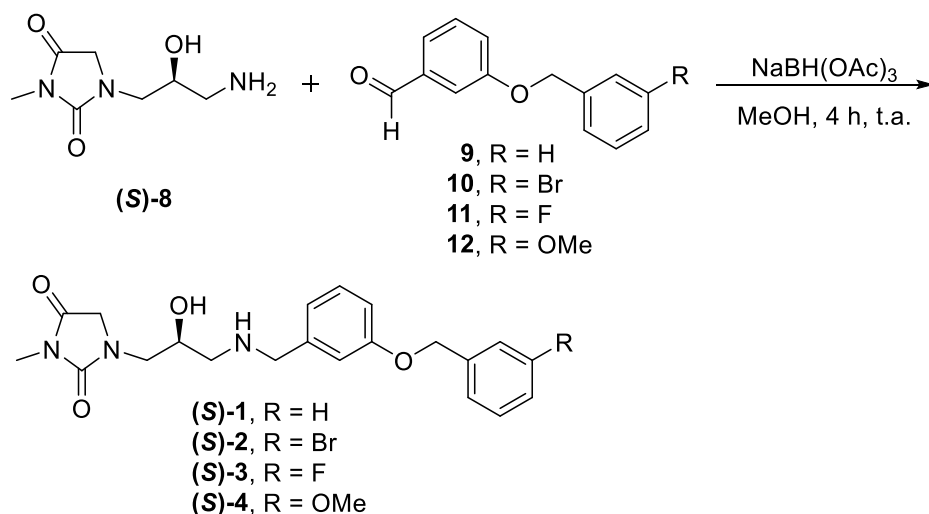


Esquema 8. Desprotección de **(S)**-17.

Los productos obtenidos de la reacción de desprotección se utilizaron inmediatamente en el siguiente paso de síntesis sin ninguna purificación adicional.

4.5. Síntesis de los productos finales 1-4.

La síntesis de los compuestos finales enantioméricamente puros (**1-4**) se realizó a través de una aminación reductora entre la hidroxi-amina correspondiente (enantiómero *S* y *R* en cada caso) y cada uno de los aldehídos (**9-12**). Inicialmente se propuso usar el NaBH_3CN como agente reductor para la aminación reductora pero no dio buenos resultados, por tanto decidimos cambiar el agente reductor por el $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ que además de dar buenos resultados es menos tóxico que el anterior debido a la ausencia de CN. (**Esquema 9**)



Esquema 9. Síntesis de los aminoalcoholes (**1-4**).

El primer producto sintetizado fue el que no presenta ningún sustituyente en la posición *meta* del anillo aromático terminal. Para ello se trató una disolución de la hidroxí-amina **8** (enantiómero *S* y enantiómero *R*) y 3-benciloxibenzaldehído (**9**) en MeOH con NaBH(OAc)₃ a 0 °C durante 15 min y a t.a. durante 5 h. Los enantiómeros *S* y *R* se aislaron con rendimientos del 41% y 51%, respectivamente. (**Figura 11**)

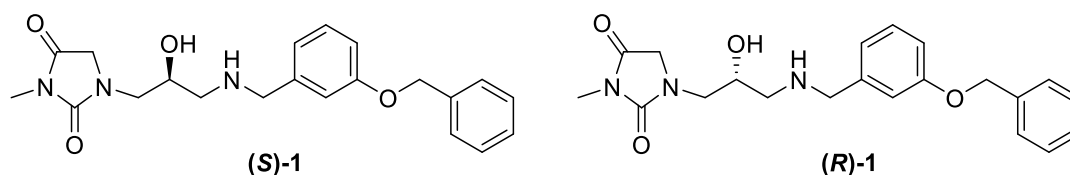


Figura 11: Estructura de (*S*)-1 y (*R*)-1.

En el ¹H RMN de esta molécula se observa en la zona aromática comprendida entre δ 7.5 y 6.8 ppm una serie de señales que integran por los nueve protones aromáticos de la molécula. A δ 5.07 ppm aparece un singlete que se corresponde con el CH₂ bencílico y que se encuentra en alfa al grupo éter que une los dos anillos aromáticos. A δ 4.11 ppm aparece un doblete triplete (*J* = 10.1, 6.9, 3.4 Hz) que integra por 1H que se corresponde con el CH alfa al grupo hidroxilo. A continuación, a δ 4.04 y 4.00 ppm se distinguen dos dobletes (*J* = 17.8 Hz) que integran cada uno por 1 H debidos al grupo metileno de la hidantoína y otros dos dobletes a δ 3.98 y 3.94 (*J* = 13.3 Hz) del CH₂ bencílico adyacente al grupo amino. A δ 3.40 y 3.29 ppm se observan dos dobles dobletes (*J* = 14.5, 3.7 Hz y *J* = 14.5, 6.9 Hz, respectivamente) debidos al metileno de la cadena central adyacente a la hidantoína. A δ 2.86 y 2.65 ppm se observan dos dobles dobletes (*J* = 12.4, 3.1 Hz y *J* = 12.4, 9.4 Hz, respectivamente) debidos al metileno de la cadena central adyacente a la amina y al carbono quiral. A δ 2.97 ppm aparece un singlete que integra por 3H debido al CH₃ de la hidantoína. Por último, los protones unidos a los heteroátomos aparecen como un singlete ancho centrado a δ 5.14 ppm. En cuanto al ¹³C RMN vemos que aparecen los dos carbonilos de la hidantoína (δ 170.6 y 159.1 ppm) y los tres carbonos cuaternarios aromáticos (a δ 157.6, 136.7 y 136.2 ppm). En la zona alifática destacamos las señales debidas a los grupos metileno a δ 70.0, 52.4, 51.8, 50.6 y 46.6 ppm. A δ 67.1 ppm aparece el CH del estereocentro y a δ 24.9 ppm la señal debida al CH₃ de la hidantoína. Por último, los grupos carbonilo aparecen en el espectro de IR como una banda centrada a 1677 cm⁻¹. Los datos espectroscópicos de los dos enantiómeros son idénticos por lo que sólo se reportan los valores de uno de ellos.

El segundo derivado preparado fue el que presentaba un Br en el anillo aromático terminal. El procedimiento usado fue el mismo para todos los productos finales: aminación reductora con $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ variando únicamente el aldehído, en este caso **10**. El enantiómero *S* bromado se aisló con un 36% de rendimiento, mientras que el enantiómero *R* se aisló con un 41%. (**Figura 12**)

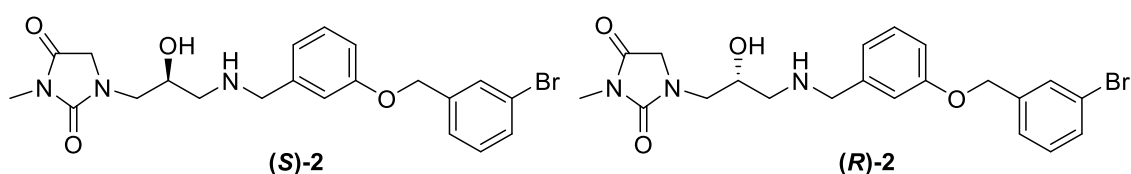


Figura 12: Estructura de **(S)-2** y **(R)-2**.

En el ^1H RMN de esta molécula aparecen señales en la zona aromática debidas a los ocho protones aromáticos (δ 7.7-6.9 ppm). Los protones unidos a los heteroátomos aparecen como un singlete ancho centrado a δ 5.25 ppm. A δ 5.04 ppm aparece un singlete que se corresponde con el CH_2 del éter bencílico. A δ 4.12 ppm aparece un doble doble triplete ($J = 10.1, 6.8, 3.5$ Hz) que integra por un protón que se corresponde con el CH alfa al grupo hidroxilo. A continuación, a δ 4.05 y 4.01 aparecen dos dobletes ($J = 17.8$ Hz) y a δ 3.98 y 3.97 ppm se observan otros dos dobletes ($J = 13.6$ Hz) que se corresponderían con el CH_2 del anillo de hidantoína y el CH_2 bencílico que está alfa al grupo amino, respectivamente. A δ 3.41 y 3.30 ppm se observan dos dobles dobletes ($J = 14.5, 3.7$ Hz y $J = 14.5, 6.9$ Hz) que integra por 1H cada uno, debidos al CH_2 adyacente a la hidantoína y al estereocentro. A δ 2.97 ppm aparece un singlete que integra por 3H y se corresponde con el CH_3 de la hidantoína. Por último, a δ 2.87 y 2.66 ppm se observan dos dobles dobletes ($J = 12.4, 3.1$ Hz y $J = 12.4, 9.5$ Hz, respectivamente) debidos a los dos H del metileno de la parte central de la molécula. En cuanto al ^{13}C RMN destacamos las señales de los dos carbonilos de la hidantoína (a δ 170.6 y 158.8 ppm) y los cuatro carbonos cuaternarios (δ 157.5, 139.6, 139.3 y 127.7 ppm). En la zona alifática destacamos los cinco metilenos a δ 69.1, 53.2, 51.9, 51.3 y 46.6 ppm, la señal del CH a δ 68.2 ppm y el CH_3 a δ 24.9 ppm. Por último, en el espectro de IR observamos una banda a 1695 cm^{-1} debida a los dos carbonilos de la hidantoína.

Los enantiómeros **(S)-3** y **(R)-3** se aislaron con rendimientos del 33% y 36%, respectivamente, por reacción en metanol de la hidroxiamina **8** y el 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (**11**) con $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$. (**Figura 13**)

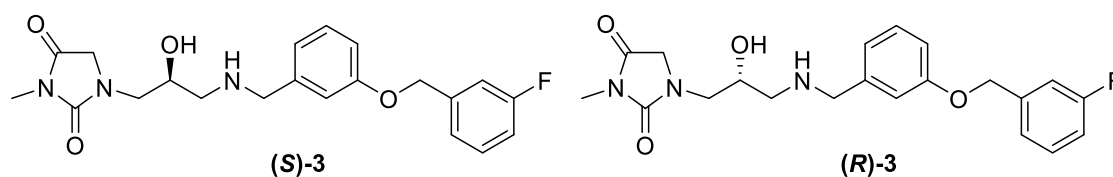


Figura 13: Estructura de **(S)-3** y **(R)-3**.

El espectro de ^1H RMN de esta molécula es muy similar a los descritos previamente. En la zona aromática (δ 7.4-6.8 ppm) se observan señales que integran por los ocho protones aromáticos. A δ 5.05 ppm se observa un singlete que integra por 2H debido al CH_2 del éter bencílico. A δ 4.99 ppm se observa un singlete ancho que integra por 2H debido a los protones unidos a los heteroátomos (OH y NH). A δ 4.07 ppm aparece un multiplete que integra por un protón debido al CH alfa al grupo hidroxilo. A continuación, a δ 4.06 y 4.00 ppm aparecen dos dobletes ($J = 17.7$ Hz) debidos al CH_2 del anillo de hidantoína y a δ 3.95 y 3.91 ppm otros dos dobletes ($J = 13.3$ Hz) debidos al CH_2 bencílico que está alfa al grupo amino. A δ 3.42 y 3.30 ppm se observan dos dobles dobletes ($J = 14.5, 3.6$ Hz y $J = 14.5, 6.9$ Hz) que integra por 1H cada uno, debidos al CH_2 adyacente a la hidantoína y al estereocentro. A δ 2.96 ppm aparece un singlete que integra por 3H y se corresponde con el CH_3 de la hidantoína. Por último, a δ 2.85 y 2.66 ppm se observan dos dobles dobletes ($J = 12.3, 3.2$ Hz y $J = 12.4, 9.4$ Hz, respectivamente) debidos a los dos H del metileno de la parte central de la molécula. En cuanto al ^{13}C RMN hay que destacar que se observan más señales que átomos de C debido a los acoplamiento C-F. Se observan dos señales a δ 170.6 y 159.0 ppm debidas a los dos carbonilos de la hidantoína, que en el espectro de IR dan una banda centrada a 1699 cm^{-1} . Los carbonos cuaternarios del anillo que tiene F aparecen como dobletes centrados a δ 163.1 ppm ($J = 246.1$ Hz) y δ 139.5 ppm ($J = 7.3$ Hz), mientras que los carbonos cuaternarios del anillo aromático central aparecen a δ 157.7 y 136.6 ppm. A continuación, aparecen todas las señales de los CH aromáticos destacando aquellas señales con acoplamiento C-F que desdoblan en forma de doblete siendo δ 130.3 ($J = 8.1$ Hz), 122.9 ($J = 2.9$ Hz), 115.0 ($J = 21.4$ Hz) y 114.4 ppm ($J = 22.0$ Hz). Por otro, lado en la zona alifática a δ 69.3 ppm aparece un CH_2 debido al metileno bencílico y alfa al grupo éter que también aparece como doblete ($J = 2.0$ Hz). Además, aparecen a δ 52.6, 51.9, 50.8 y 46.6 ppm los otros cuatro grupos CH_2 de nuestra molécula, además del CH a δ 67.3 ppm y el CH_3 a δ 25.0 ppm.

De manera análoga, los enantiómeros **(S)-4** y **(R)-4** se obtuvieron por aminación reductora de la correspondiente hidroxiamina **(S)-8** o **(R)-8** y el 3-((3-

metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**) con $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ en metanol y se aislaron con rendimientos del 41 y 36%, respectivamente. (**Figura 14**)

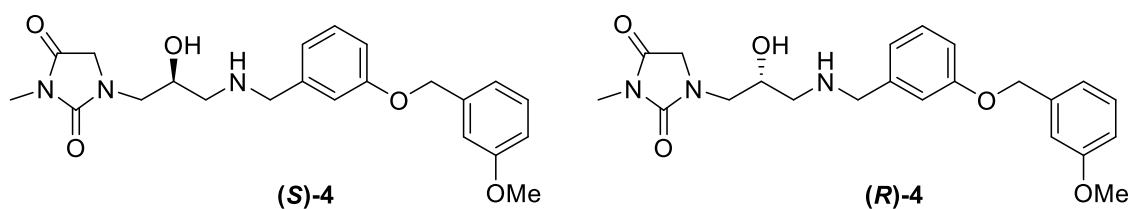


Figura 14: Estructura de (**S**)-4 y (**R**)-4.

En el ^1H RMN de esta molécula se observan una serie de señales entre δ 7.4 y 6.8 ppm correspondientes a los ocho protones aromáticos de la molécula. Los protones unidos a los heteroátomos (OH y NH) aparecen como un singlete ancho centrado a δ 5.32 ppm. A δ 5.01 ppm aparece un singlete debido al CH_2 del éter bencílico. A 4.01 ppm aparece un multiplete que integra por tres protones debido al CH alfa al grupo hidroxilo y al metileno del anillo de hidantoína. A δ 3.90 y 3.86 ppm aparecen dos dobletes ($J = 13.4$ Hz) que se corresponderían con el CH_2 bencílico que está alfa al grupo amino. A δ 3.78 ppm aparece un singlete que integra por 3 protones debido al grupo metoxilo. A δ 3.40 y 3.28 ppm aparecen las señales debidas al metileno adyacente a la hidantoína y al estereocentro y a δ 2.80 y 2.63 ppm tenemos las señales debidas al metileno de la parte central de la molécula. Por último, a δ 2.94 ppm se observa un singlete que integra por 3H debido al metilo de la hidantoína. En cuanto al ^{13}C RMN destacamos las señales debidas a los dos carbonilos de la hidantoína (δ 170.7 y 159.9 ppm) y a los cuatro carbonos cuaternarios (δ 159.1, 157.6, 138.4 y 137.2 ppm). En la zona alifática se observan las señales debidas a los cinco metilenos a δ 69.9, 52.6, 51.8, 50.9 y 46.6 ppm. Además, el CH aparece a δ 67.5 ppm, el CH_3 del grupo metoxilo a δ 55.3 ppm y el CH_3 de la hidantoína a δ 24.9 ppm. Por último, en el espectro de IR observamos la banda a 1699 cm^{-1} correspondiente con los dos carbonilos de la hidantoína.

De esta manera se sintetizaron y caracterizaron ocho productos (cuatro enantiómeros de la serie *S* y cuatro de la serie *R*) que se enviarán al Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS) de la USC para evaluar su capacidad de inhibición de BACE-1 y AChE (Prof. Marián Castro, grupo Biofarma).

5. PARTE EXPERIMENTAL.

5.1. Procedimiento general.

Las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de argón seco y desoxigenado, salvo que se indique lo contrario.

Los disolventes utilizados en las reacciones se secaron por destilación en atmósfera de argón sobre un agente desecante adecuado, inmediatamente antes de su uso.²³ Como agentes desecantes se emplearon: Na/benzofenona para THF y tolueno; CaO y Mg/I₂ para *i*PrOH; Mg/I₂ para MeOH; CaH₂ para Et₃N y K₂CO₃ para acetona.

El material de vidrio utilizado en las reacciones que exigieron condiciones anhidras se secó por calentamiento a 120 °C durante 14 h, flameado y posterior enfriamiento en corriente argón seco.

Las adiciones de disolventes y disoluciones se llevaron a cabo vía jeringa.

El secado de las disoluciones obtenidas tras la elaboración de cada reacción se llevó a cabo con Na₂SO₄ anhidro.

Para la cromatografía en capa fina analítica se emplearon placas de aluminio con gel de sílice GF-254 Merck. Los cromatogramas se visualizaron bajo luz UV (254 nm) para los compuestos que absorben a dicha longitud de onda y también por revelado al calor de la placa cromatográfica, previamente tratada con una disolución etanólica de ácido fosfomolibdico (5%).

Para la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice Merck 60 de grano de 0.04-0.063 mm (230-400 mesh) o un equipo de cromatografía CombiFlash® Rf-200 de Teledyne Isco con cartuchos de gel de sílice RediSep® Rf (4, 12 o 40 g).

Para las reacciones a baja temperatura se emplearon baños de hielo seco con acetona o una sonda de refrigeración CRYOCOOL-Inmersion Cooler HAAKE EK 90.

Los espectros de RMN se registraron en espectrómetros VARIAN Mercury-300 (300.13 MHz para ¹H y 75.47 MHz para ¹³C), Bruker AVIII500 (500.13 MHz para ¹H y 126.00 MHz para ¹³C). Los desplazamientos químicos están expresados en unidades δ (ppm) y las

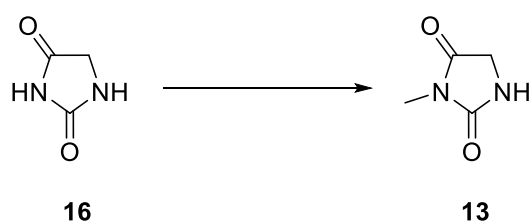
²³ (a) Perrin, D. P.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4th ed. Butterworth Heinemann: Oxford, 1998 (b) Armarego, W. L. F.; Chai, C. *Purification of Laboratory Chemicals*, 5th ed. Butterworth Heinemann: Oxford, 2003.

constantes de acoplamientos en Hz. El procesamiento de los espectros de RMN se llevó a cabo utilizando el programa **M**Nova de la empresa Mestrelab Research, S. L.

Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro Agilent Technologies Cary 630 FTIR.

Los espectros de masas de alta resolución se realizaron en un espectrómetro Bruker Microtof o Q-TRAP para electrospray.

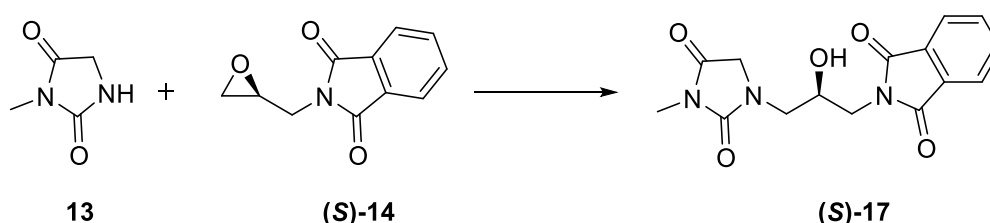
5.2. Síntesis de 3-metilimidazolidin-2,4-diona (**13**).



Una disolución de la hidantoína **16** (5.13 g, 51.3 mmol) en tolueno (100 mL) se trató con 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetiletan-1-amina (15 mL, 102.6 mmol) y se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, observándose la formación de un sólido amarillo que se filtró, se lavó con tolueno frío (3 x 10 mL) y se secó a vacío (4.39 g, 75%).

P.f. $183\text{--}185\text{ }^{\circ}\text{C}$. (tolueno). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.22 (s, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.02 (s, 3H). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 171.7, 159.0, 46.7, 24.6. IR (neto): 1684 cm^{-1} . Los datos experimentales coinciden con los recogidos en bibliografía.²²

5.3. Síntesis de 2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona (**17**).

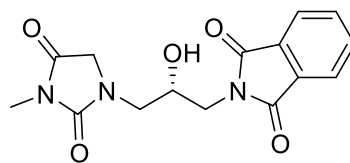


5.3.1. Síntesis de (*S*)-2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona (**(S)-17**).

Sobre una disolución de **13** (3.0 g, 26.3 mmol) en *i*PrOH (90 mL) se añadió el epóxido **(S)-14** (5.87 g, 28.9 mmol) y Et_3N (4.4. mL, 31.6 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a

reflujo durante 16 h. Transcurrido el tiempo estipulado, la mezcla se dejó enfriar a t.a. formándose un precipitado amarillo que se filtró, se lavó con isopropanol (2 x 30 mL) y se secó a vacío (6.05 g, 72%).

5.3.2. Síntesis de (R)-2-(2-hidroxi-3-(3-metil-2,4-dioxoimidazolidin-1-il) propil)isoindolin-1,3-diona ((R)-17).



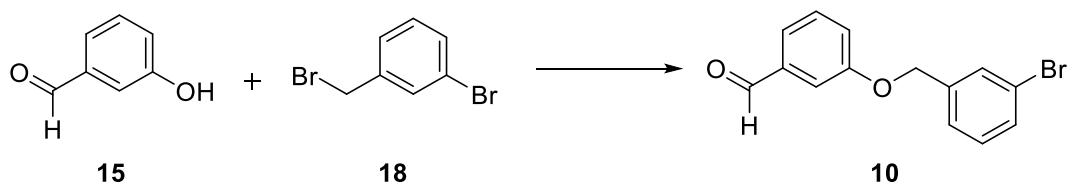
(R)-17

Sobre una disolución de **13** (3.0 g, 26.3 mmol) en *i*PrOH (90 mL) se añadió el epóxido **(R)-14** (5.87 g, 28.9 mmol) y Et₃N (4.4. mL, 31.6 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 16 h. Transcurrido el tiempo estipulado, la mezcla se dejó enfriar a t.a. formándose un precipitado amarillo que se filtró, se lavó con isopropanol (2 x 30 mL) y se secó a vacío (6.2 g, 74%).

P.f. 63-165 °C (CH₂Cl₂). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.87 (m, 2H), 7.75 (m, 2H), 4.18 (m, 1H), 4.12 (d, *J* = 17.8 Hz, 1H), 4.01 (d, *J* = 17.7 Hz, 1H), 3.90 (dd, *J* = 14.5, 3.8 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 14.5, 6.9 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 14.6, 3.5 Hz, 1H), 3.41 (dd, *J* = 14.6, 7.6 Hz, 1H), 3.25 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 3.01 (s, 3H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 170.6, 168.8, 157.6, 134.3, 131.8, 123.5, 69.0, 51.7, 46.9, 42.1, 24.9. IR (neto): 1688, 1755 cm⁻¹. HRMS (ESI) calculado para C₁₅H₁₅N₃O₅Na [M+Na]⁺=340.0904, experimental: 340.0900.

5.4. Síntesis de los benciloxibenzaldehídos 10-12.

5.4.1. Síntesis de 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (**10**).

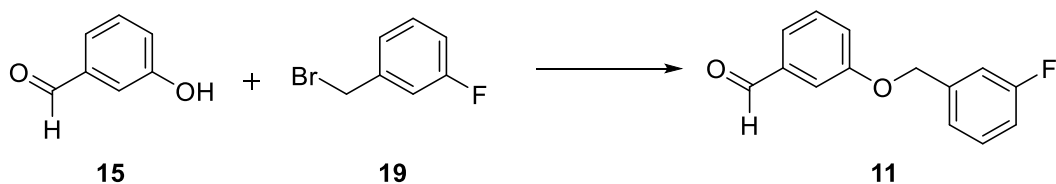


Sobre una disolución de 3-hidroxibenzaldehído (2.0 g, 16.4 mmol) en acetona (30 mL) se añadió K₂CO₃ (2.94 g, 21,3 mmol) y se agitó durante 15 minutos. A continuación se añadió una disolución de 1-bromo-3-bromometilbenceno (4.9 g, 19.6 mmol) en acetona (20 mL) y se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a t.a. y se concentró

a sequedad, el residuo resultante se disolvió en EtOAc (50 mL) y se lavó con agua (30 mL) y con salmuera (30 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío en rotavapor. El producto se obtuvo como un aceite incoloro (2.3 g, 48%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/Hexano, 1:10).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.98 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.48 (m, 4H), 7.36 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.26 (m, 2H), 5.09 (s, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 191.9, 158.9, 138.6, 137.8, 131.2, 130.3, 130.2, 125.9, 123.9, 122.7, 122.0, 113.1, 69.2. IR (neto): 1692 cm⁻¹. HRMS (ESI) calculado para C₁₄H₁₂BrO₂ [M+H]⁺: 291.0015, experimental: 291.0029.

5.4.2. Síntesis de 3-((3-fluorobencil)oxi)benzaldehído (**11**).

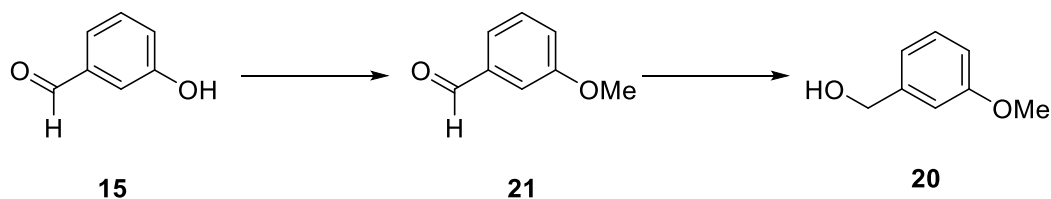


Sobre una disolución de 3-hidroxibenzaldehído (2.0 g, 16.4 mmol) en acetona (30 mL) se añadió K₂CO₃ (2.94 g, 21.3 mmol) y se agitó durante 15 min. Se añadió una disolución de 1-bromometil-3-fluorobenceno (2.4 mL, 19.6 mmol) en acetona (20 mL) y se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción obtenida se enfrió a t.a. y se concentró a sequedad. El residuo resultante se disolvió en EtOAc (50 mL) y se lavó con H₂O (30 mL) y salmuera (30 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a vacío en rotavapor. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/hexano 1:10), aislándose el aldehído **11** como un sólido blanco (3.28 g, 87%).

P.f. 48-50 °C (tolueno). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.98 (s, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.37 (td, *J* = 7.9, 5.8 Hz, 1H), 7.22 (m, 3H), 7.03 (td, *J* = 8.3, 2.6 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, MeOD) δ: 192.1, 163.1 (d, *J* = 246.5 Hz), 159.1, 139.0 (d, *J* = 7.4 Hz), 137.9, 130.4, 130.3, 124.0, 122.9 (d, *J* = 3.1 Hz), 122.2, 115.2 (d, *J* = 21.0 Hz), 114.3 (d, *J* = 22.2 Hz), 113.2, 69.4 (d, *J* = 2.1 Hz). IR (neto): 1684 cm⁻¹. HRMS (ESI) calculado para C₁₄H₁₂FO₂ [M+H]⁺: 231.0816, experimental: 231.0829.

5.4.3. Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**).

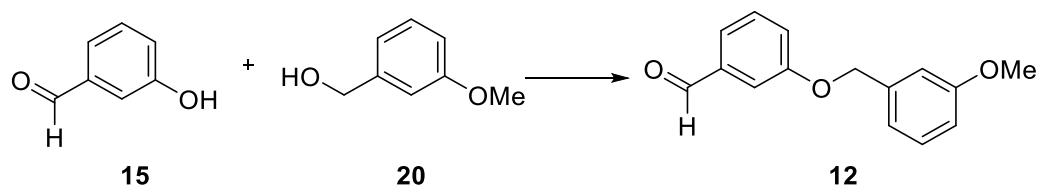
5.4.3.1. Síntesis de 3-(metoxifenil)metanol (**20**).



Sobre una disolución de 3-hidroxibenzaldehído (5.0 g, 40.9 mmol) en acetona (200 mL) se añadió K_2CO_3 (8.48 g, 61.4 mmol) y se agitó durante 15 minutos. Se añadió yodometano (3.8 mL, 61.0 mmol) y se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción obtenida se enfrió a t.a. y se concentró a sequedad, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 mL) y se lavó con salmuera (100 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a sequedad. El producto **21** se obtuvo como un aceite incoloro (5.3 g, 96%) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Una disolución de 3-metoxibenzaldehído (5.3 g, 38.9 mmol) en MeOH anhidro (200 mL) se enfrió a 0 °C y se trató con NaBH_4 (2.22 g, 58.7 mmol) que se añadió en cuatro porciones durante 10 minutos. Se retiró el baño y la mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 1 h, se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 mL) y se lavó con salmuera (200 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a sequedad. El producto **20** se obtuvo como un aceite incoloro (4.89 g, 91%) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

5.4.3.2. Síntesis de 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (**12**).

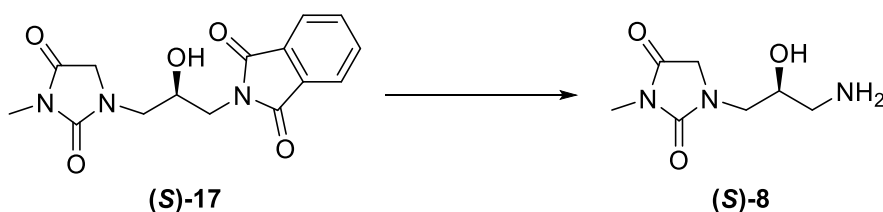


Sobre una disolución de 3-hidroxibenzaldehído (4.75 g, 38.9 mmol) en THF (100 mL) se añadió PPh_3 (10.2 g, 38.9 mmol) y se agitó a 0 °C. Por otro lado, se preparó una disolución de **20** (4.89 g, 35.4 mmol) y DIAD (7.66 mL, 38.9 mmol) en THF (80 mL) que se añadió gota a gota sobre la primera disolución a 0 °C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó a t.a. durante 16 h, se concentró a sequedad y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 mL) y se lavó con salmuera (200 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se

filtró y se concentró a sequedad. El producto **12** se obtuvo como un aceite incoloro (6.68 g, 78%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, EtOAc/Hexano 1:5).

Rendimiento global: 68 %. ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.99 (s, 1H), 7.49 (m, 3H), 7.34 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.28 (ddd, *J* = 7.6, 2.6, 1.6 Hz, 1H), 7.04 (m, 2H), 6.91 (dd, *J* = 8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.12 (s, 2H), 3.85 (s, 3H). ¹³C RMN (126 MHz, CDCl₃) δ: 192.2, 160.0, 159.4, 138.0, 137.9, 130.2, 129.9, 123.8, 122.3, 119.8, 113.8, 113.4, 113.1, 70.2, 55.4. IR (neto): 1692 cm⁻¹. HRMS (ESI) calculado para C₁₅H₁₅O₃ [M+H]⁺: 243.1016, experimental: 243.1016.

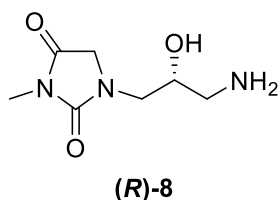
5.5. Síntesis de 1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona (**8**).



5.5.1. Preparación de (S)-1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-8).

Una suspensión de **(S)-17** (5.0 g, 15.7 mmol) en etanol absoluto (150 mL) se trató con hidracina monohidratada (3.8 mL, 78.5 mmol) y se calentó a reflujo durante 4 h. La disolución amarilla resultante se enfrió a temperatura ambiente observándose la formación de un precipitado amarillo que se separó por filtración a vacío sobre celita y se lavó con etanol frío. El filtrado se concentró en rotavapor y luego se secó a vacío, obteniéndose **(S)-8** como un sólido que se utilizó inmediatamente en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional (2.9 g, 99%).

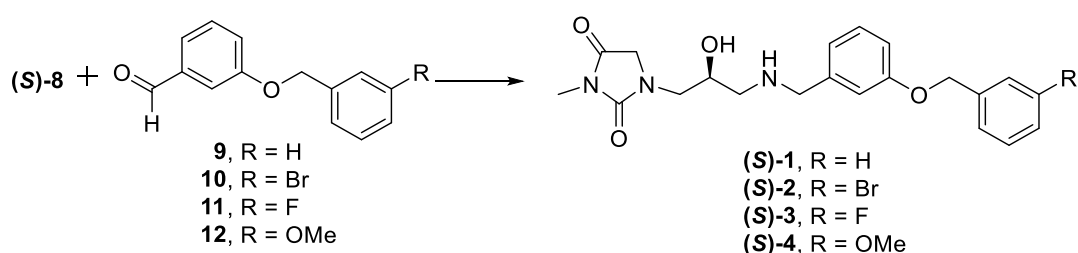
5.5.2. Preparación de (R)-1-(3-amino-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-8).



Siguiendo el mismo procedimiento que para la síntesis de **(S)-8**, la reacción de **(R)-17** (5.0 g, 15.7 mmol) con hidracina (3.8 mL, 78.3 mmol) condujo a **(R)-8** como un sólido de color amarillo (2.7 g, 92 %).

5.6. Procedimiento general para la síntesis de las hidantoínas finales 1-4.

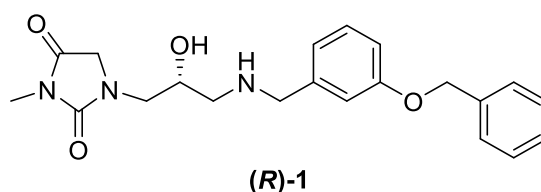
Se preparó una disolución de **(S)** o **(R)**-**8** (0.47 g, 2.51 mmol) en MeOH anhidro (30 mL) y se enfrió a 0 °C, se añadió el aldehído correspondiente **9-12** (3.03 mmol) y se agitó durante 15 minutos. A continuación se añadió lentamente NaBH(OAc)₃ (1.06g, 5.02 mmol) y se agitó durante 5 h a t.a. La mezcla de reacción obtenida se concentró a sequedad y el residuo resultante se disolvió en EtOAc (50 mL) y se lavó con H₂O (50mL) y salmuera (50 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a vacío en rotavapor. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice.



5.6.1. Síntesis de (S)-1-(3-((3-(benciloxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-1).

Siguiendo el procedimiento general, se trató **(S)**-**8** (0.47 g, 2.51 mmol) con 3-benciloxibenzaldehído (0.64 g, 3.02 mmol) y NaBH(OAc)₃ (1.06 g, 5.02 mmol). El producto **(S)**-**1** se obtuvo como un sólido blanco (0.40 g, 41%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/CH₂Cl₂ 1:10). $[\alpha]_D^{20} = -6.8$ (c 0.1, CHCl₃)

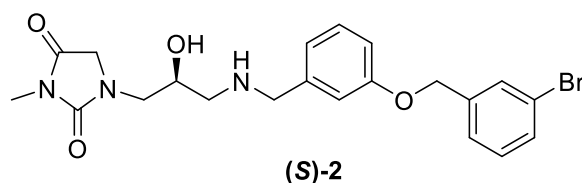
5.6.2. Síntesis de (R)-1-(3-((3-(benciloxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-1).



Siguiendo el procedimiento general, se trató **(R)**-**8** (0.47 g, 2.51 mmol) con 3-benciloxibenzaldehído (0.64 g, 3.02 mmol) y NaBH(OAc)₃ (1.06 g, 5.02 mmol). El aminoalcohol **(R)**-**1** se obtuvo como un sólido blanco (0.49 g, 51%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/CH₂Cl₂ 1:10). $[\alpha]_D^{20} = 5.8$ (c 0.1, CHCl₃).

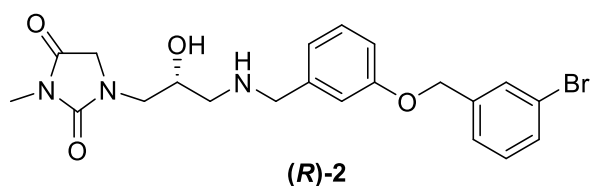
P.f. 111-112 °C (CH₂Cl₂). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.39 (m, 4H), 7.27 (m, 2H), 7.11 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.94 (dd, *J* = 8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.14 (sa, 2H), 5.07 (s, 2H), 4.11 (ddt, *J* = 10.1, 6.9, 3.4 Hz, 1H), 4.04 (d, *J* = 17.8 Hz, 1H), 4.00 (d, *J* = 17.8 Hz, 1H), 3.98 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.94 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.40 (dd, *J* = 14.5, 3.7 Hz, 1H), 3.29 (dd, *J* = 14.5, 6.9 Hz, 1H), 2.97 (s, 3H), 2.86 (dd, *J* = 12.4, 3.1 Hz, 1H), 2.65 (dd, *J* = 12.4, 9.4 Hz, 1H). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ 170.6, 159.1, 157.6, 136.7, 136.2, 130.0, 128.6, 128.1, 127.6, 121.7, 115.8, 114.9, 70.0, 67.1, 52.4, 51.8, 50.6, 46.6, 24.9. IR (neto): 1677 cm⁻¹. HRMS (ESI) calculado para C₂₁H₂₅N₃O₄Na [M+Na]⁺: 406.1737, experimental: 406.1737.

5.3. Síntesis de (*S*)-1-(3-((3-(3-bromobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((*S*)-2).



Siguiendo el procedimiento general, se trató (*S*)-8 (0.467 g, 2.49 mmol) con 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (0.87 g, 2.99 mmol) y NaBH(OAc)₃ (1.06 g, 5.04 mmol). El aminoalcohol (*S*)-2 se obtuvo como un sólido blanco (414 mg, 36%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/CH₂Cl₂ 1:10). [α]_D²⁰ = -10.0 (c 0.1, CHCl₃).

5.6.4. Síntesis de (*R*)-1-(3-((3-(3-bromobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxiopropil-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((*R*)-2).

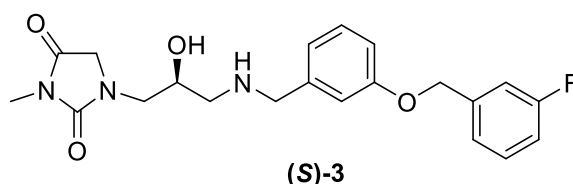


Siguiendo el procedimiento general, se trató (*R*)-8 (0.467 g, 2.49 mmol) con 3-((3-bromobencil)oxi)benzaldehído (0.87 g, 2.99 mmol) y NaBH(OAc)₃ (1.06 g, 5.04 mmol). El aminoalcohol (*R*)-2 se obtuvo como un sólido blanco (471 mg, 41%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO₂, MeOH/CH₂Cl₂ 1:10). [α]_D²⁰ = 9.3 (c 0.1, CHCl₃).

P.f. 75-76 °C (CH₂Cl₂). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.59 (s, 1H), 7.44 (dt, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.25 (m, 2H), 7.12 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 7.5

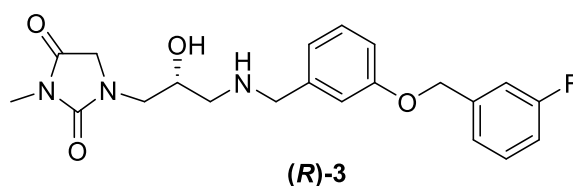
Hz, 1H), 6.92 (dd, $J = 8.3, 2.5$ Hz, 1H), 5.25 (sa, 2H), 5.04 (s, 2H), 4.12 (ddt, $J = 10.1, 6.8, 3.5$ Hz, 1H), 4.05 (d, $J = 17.8$ Hz, 1H), 4.01 (d, $J = 17.8$ Hz, 1H), 3.98 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 3.97 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 3.41 (dd, $J = 14.5, 3.7$ Hz, 1H), 3.30 (dd, $J = 14.5, 6.9$ Hz, 1H), 2.97 (s, 3H), 2.87 (dd, $J = 12.4, 3.1$ Hz, 1H), 2.66 (dd, $J = 12.4, 9.5$ Hz, 1H). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 158.8, 157.5, 139.6, 139.3, 131.1, 130.4, 130.2, 129.8, 126.0, 122.7, 121.3, 115.1, 113.9, 69.1, 68.2, 53.2, 51.9, 51.3, 46.6, 24.9. IR (neto): 1695 cm^{-1} . HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{BrN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 462.1023, experimental, 462.1042.

5.6.5. Síntesis de (S)-1-(3-((3-(3-fluorobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxi-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((S)-3).



Siguiendo el procedimiento general, se trató una disolución de **(S)-8** (0.2 g, 1.07 mmol) en MeOH (10 mL) con 3-((3-(3-fluorobencil)oxi)-benzaldehído (0.295 g, 1.28 mmol) y $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (445 mg, 2.1 mmol). El producto **(S)-3** se obtuvo como una espuma blanca (143 mg, 33%) después de la purificación por cromatografía en columna (SiO_2 , MeOH/ CH_2Cl_2 1:7). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.0$ (c 0.1, MeOH).

5.6.6. Síntesis de (R)-1-(3-((3-(3-fluorobencil)oxi)bencil)amino)-2-hidroxi-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((R)-3).

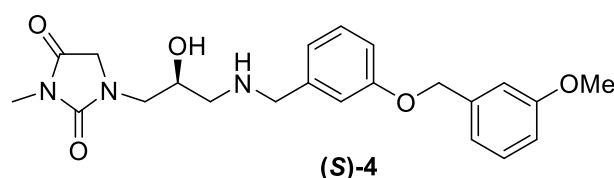


Siguiendo el procedimiento general, se trató una disolución de **(R)-8** (0.2 g, 1.07 mmol) en MeOH (10 mL) con 3-((3-(3-fluorobencil)oxi)-benzaldehído (0.295 g, 1.28 mmol) y $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (450 mg, 2.1 mmol). El producto **(R)-3** se obtuvo como una espuma blanca (154 mg, 36%) después de la purificación por cromatografía en columna (SiO_2 , MeOH/ CH_2Cl_2 1:7). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 2.5$ (c 0.1, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.33 (td, $J = 7.9, 5.8$ Hz, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.18 (dt, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H), 7.14 (dt, $J = 9.6, 2.1$ Hz, 1H), 7.07 (m, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.91 (ddd, $J =$

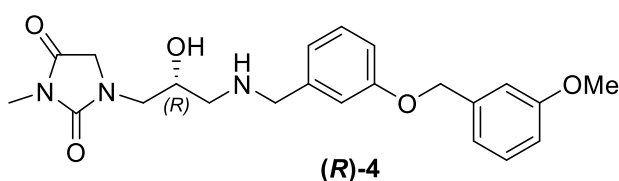
8.4, 2.6, 0.9 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 4.99 (sa, 2H), 4.07 (m, 1H), 4.06 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 3.95 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.91 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.42 (dd, $J = 14.5, 3.6$ Hz, 1H), 3.30 (dd, $J = 14.5, 6.9$ Hz, 1H), 2.96 (s, 3H), 2.85 (dd, $J = 12.3, 3.2$ Hz, 1H), 2.66 (dd, $J = 12.4, 9.4$ Hz, 1H). ^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3) δ : 170.6, 163.1 (d, $J = 246.1$ Hz), 159.0, 157.7, 139.5 (d, $J = 7.3$ Hz), 136.6, 130.3 (d, $J = 8.1$ Hz), 130.1, 122.9 (d, $J = 2.9$ Hz), 121.9, 115.6, 115.0 (d, $J = 21.4$ Hz), 115.0, 114.4 (d, $J = 22.0$ Hz), 69.3 (d, $J = 2.0$ Hz), 67.3, 52.6, 51.9, 50.8, 46.6, 25.0. IR (neto): 1699 cm^{-1} . HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{FN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 402.1824, experimental: 402.1833.

5.6.7. Síntesis de (*S*)-1-(2-hidroxi-3-((3-((3-metoxibencil)oxi)bencil)amino)propil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((*S*)-4).



Siguiendo el procedimiento general, se trató una disolución de (*S*)-8 (0.2 g, 1.07 mmol) en MeOH (10 mL) con 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (0.285 g, 1.18 mmol) y $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0.445 g, 2.1 mmol). El producto (*S*)-4 se aisló como una espuma blanca (183 mg, 41%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO_2 , MeOH/ CH_2Cl_2 1:7). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -6.0$ (c 0.1, MeOH).

5.6.8. Síntesis de (*R*)-1-(2-hidroxi-3-((3-((3-metoxibencil)oxi)bencil)amino)propil)-3-metilimidazolidin-2,4-diona ((*R*)-4).



Siguiendo el procedimiento general, se trató una disolución de (*R*)-8 (0.2 g, 1.07 mmol) en MeOH (10 mL) con 3-((3-metoxibencil)oxi)benzaldehído (0.285 g, 1.18 mmol) y $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (0.452 g, 2.14 mmol). El producto (*R*)-4 se aisló como una espuma blanca (160 mg, 36%) tras purificación por cromatografía en columna (SiO_2 , MeOH/ CH_2Cl_2 1:7). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 5.3$ (c 0.1, MeOH).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.25 (m, 2H), 7.03 (dd, $J = 2.6, 1.6$ Hz, 1H), 6.95 (m, 3H), 6.89 (dd, $J = 8.3, 2.2$ Hz, 1H), 6.83 (ddd, $J = 8.4, 2.7, 1.0$ Hz, 1H), 5.32 (sa, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.01 (m, 3H), 3.90 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 3.86 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.40 (m, 1H), 3.28 (dd, $J = 14.5, 7.0$ Hz, 1H), 2.94 (s, 3H), 2.80 (m, 1H), 2.63 (dd, $J = 12.3, 9.2$ Hz, 1H). ^{13}C RMN (126 MHz, CDCl_3) δ : 170.7, 159.9, 159.1, 157.6, 138.4, 137.2, 130.0, 129.7, 121.5, 119.8, 115.6, 114.6, 113.5, 113.1, 69.9, 67.5, 55.3, 52.6, 51.8, 50.9, 46.6, 24.9. IR (neto): 1699 cm^{-1} . HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 414.2023, experimental: 414.2022.

6. CONCLUSIONES.

- Se han sintetizado tres 3-benciloxibenzaldehídos sustituidos en la posición *meta* con Br (**10**), F (**11**) y OMe (**12**) a partir de 3-hidroxibenzaldehído y el correspondiente bromuro bencílico para los derivados halogenados y mediante una reacción de Mitsunobu el derivado oxigenado.
- Se ha preparado la amina (**S**)-**8** por reacción de apertura del epóxido (**S**)-**14** con 3-metilhidantoína y posterior desprotección del grupo ftalida. Se repitió el proceso con el epóxido (**R**)-**14** para obtener la correspondiente amina (**R**)-**8**.
- Los aminoalcoholes finales se prepararon por aminación reductora, que implica la condensación de la amina (**S**)-**8** con los aldehídos **9-12** en presencia de NaBH(OAc)₃. De manera análoga se prepararon los enantiómeros (**R**) a partir de la correspondiente amina (**R**)-**8**.
- Se ha desarrollado una ruta convergente y enantioespecífica para la síntesis de ocho aminoalcoholes para su evaluación como inhibidores de BACE-1 y AChE.

Conclusións.

- Sintetizáronse tres 3-benciloxibenzaldehidos substituídos na posición *meta* con Br (**10**), F (**11**) e OMe (**12**) a partir de 3-hidroxibenzaldehido e o correspondente bromuro bencílico para os derivados haloxenados e mediante unha reacción de Mitsunobu o derivado osíxenado.
- Preparouse a amina (**S**)-**8** por reacción de apertura do epóxido (**S**)-**14** con 3-metilhidantoína e posterior desprotección do grupo ftalida. Repetiuse o proceso co epóxido (**R**)-**14** para obter a correspondente amina (**R**)-**8**.
- Os aminoalcois finais preparáronse por aminación redutora, que implica a condensación da amina (**S**)-**8** cos aldehidos **9-12** en presenza de NaBH(OAc)₃. De maneira análoga preparáronse os enantiómeros (**R**) a partir da correspondente amina (**R**)-**8**.
- Desenvolveuse unha ruta converxente e enantioespecífica para a síntese de oito aminoalcois para a súa posterior avaliación como inhibidores de BACE-1 e AChE.

Conclusions.

- Three differently substituted 3-benzyloxybenzaldehydes have been prepared, bearing Br, F or OMe at the *meta* position (**10-12**). The halogenated derivatives were

prepared by reaction of 3-hydroxybenzaldehyde and the appropriate substituted benzyl bromide, while a Mitsunobu reaction was conducted to prepare **12**.

- The amine **(S)**-**8** was prepared by regioselective ring opening of epoxide **(S)**-**14** with 3-methylhydantoin followed by phthalimide deprotection procedure was repeated starting from epoxide **(R)**-**14** to obtain the enantiomeric amine **(R)**-**8**.
- The final β -aminoalcohols have been prepared by reductive amination, which involves the condensation of amine **(S)**-**8** with the aldehydes **9-12** in presence of $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$. Analogously the (R)-enantiomers were prepared from the corresponding amine **(R)**-**8**.
- A convergent and enantiospecific route has been developed for the synthesis of eight β -aminoalcohols for evaluation as inhibitors of BACE-1 and AChE.

7. ANEXO I: ESPECTROS.

